

МАЛАРИЈА СТАРА БОЛЕСТ - НОВИ ИЗАЗОВИ

1. УВОД

Маларија је једна од најсмртоноснијих паразитских болести на свету. Годишње од ње оболи око 500 милиона људи, са око 2 милиона смртних случајева [1]. Посебно су угрожене области у тропском појасу Африке, југоисточној Азији, области реке Амазон, као и деца до шесте године старости и труднице.

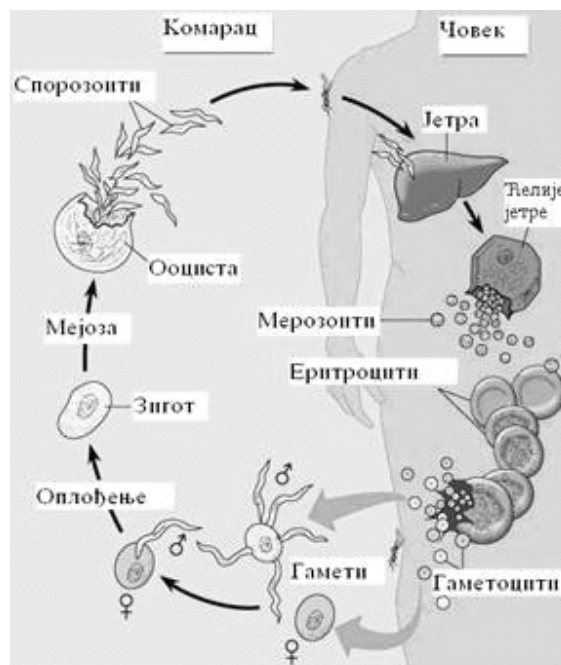
Код људи, маларију изазивају 4 врсте плазмодијума: *Plasmodium vivax* (*P. vivax*), *Plasmodium malarie* (*P. malarie*), *Plasmodium ovale* (*P. ovale*) и *Plasmodium falciparum* (*P. falciparum*) [2]. У 80 % случајева преминули пацијенти били су заражени паразитом *P. falciparum*. Нагли пораст резистенције паразита, посебно *P. falciparum*, према лековима, као и пораст вишеструке резистенције (multidrug resistance), чини проблем контроле маларије још израженијим. Посебну опасност представљају сојеви *P. falciparum* који су резистентни према већини лекова, међу којима се посебно издвајају хлорокин-резистентни сојеви (CQ-резистентни сојеви) Indochina W2, Brazil ПЕС-306, FCR3 и K1. Због тога је борба против ове болести на врху приоритета Светске здравствене организације (WHO) [3].

За лечење маларије на располагању је велики број лекова, али је њихова употреба ограничена високом ценом, токсичношћу и повећаном резистенцијом паразита. Због тога постоји велика потреба за развојем нових лекова, повећаном контролом коришћења постојећих, као и проналажењем нових приступа у лечењу маларије.

2. ЦИКЛУС РАЗВОЈА ПАРАЗИТА МАЛАРИЈЕ

У току свог развоја сва четири паразита пролазе кроз два циклуса (слика 1): **асексуални** циклус који се одвија само у пацијенту и назива се **шизогонички** и **сексуални** циклус који се одвија делом у пацијенту, а делом у комарцу и назива се **спорогонички** [2].

Инфекција код људи почиње уједом заражене женке комарца *Anopheles*. **Спорозонти** се ослобађају из пљувачних жлезда комарца и улазе у крвоток после чега се фиксирају и размножавају у ћелијама јетре (хепатоцити). Током наредних 14 дана долази до преображаја (у **криптозоите**) и асексуалног умножавања после чега настаје велики број **мерозоиота** који после пуцања хепатоцита улазе у крвоток. Једном у крвотоку мерозоити улазе у црвена крвна зрнца (еритроцити), а један број започиње циклус размножавања уз настајање **шизонта**. После ових ступњева развоја паразит поново долази у форму мерозоиота, али је њихов број јако увећан и долази до прскања еритроцита. Ослобођени мерозоити нападају нове еритроците и започињу нову еритроцитну фазу. Један део мерозоиота не следи описан пут шизогоније

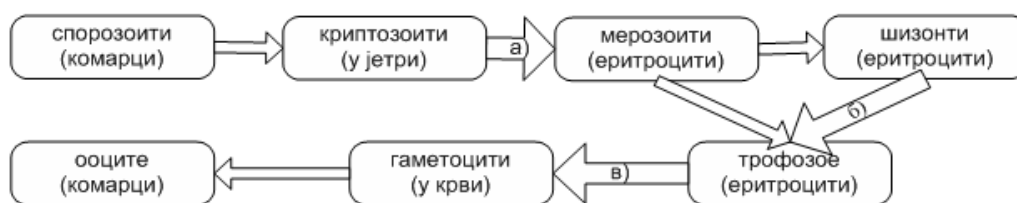


Слика 1. Циклус развоја паразита маларије.

већ се трансформишу у сексуалне форме, мушке и женске **гаметоците**. Убодом пацијента комарац уса и све форме паразита. Шизонти одмах буду сварени у желуцу, међутим мушки гаметоцити се ослобађају из еритроцита и развијају у **микрогамете**, који после оплођавања женских **макрогамета** стварају форму **оокинета**. **Оокинета** се пробија кроз зидове желуца и претвара се у **ооцисту**. У цисти се размножавају спорозоити, док она не прсне. Ослобођени спорозоити доспевају у хемолимфне путеве и највише се концентришу у пљувачним жлездама. На овај начин започиње нови циклус.

На слици 2 приказан је поједностављен циклус маларијског паразита и места дејства неких лекова који се користе у лечењу и контролисању маларије [4].

Током еритроцитне фазе развоја паразит врши разградњу хемоглобина у дигестивним вакуолама и на тај начин обезбеђује слободне аминокиселине неопходне за исхрану [5]. Током овог процеса као споредни производ ослобађа се хем. Један део хема паразит трансформише оксидативном полимеризацијом у **хемозоин** или **маларијски тилменит**, а једним делом врши неензиматску деградацију хема. У структуру хемозоина улази ферипротопорфирин IX (FP-IX). У слободном облику FP-IX је токсичан за паразит. У нормалним условима FP-IX је везан за ендогене протеине и овај облик није токсичан за паразит.



Слика 2. Место деловања: а) хлорогуанида, хлорокина, примакина и пираметамина, б) хлорокина, мефлокина и кинина, в) хлорокина, примакина и кинина.

Према месту деловања лекови против маларије деле се, на:

- Примарне ткивне шизонтициде:** лекови који делују на форме паразита које се налазе у јетри непосредно после инфекције. Представник ове групе лекова је примакин.
- Крвне шизонтициде:** лекови који делују на форме паразита које се налазе у еритроцитима. Овој групи припадају кинин, мефлокин, хлорокин, амодиакин и деривати артемизинина.
- Гаметоциде:** лекови који спречавају инфекцију комараца, а тиме и даље ширење болести, уништавањем гамета у крви. Представник ове групе је примакин.
- Секундарне ткивне шизонтициде:** лекови који се користе у лечењу хроничне повратне грознице која се јавља услед инфекције паразитима *P. vivax* и *P. ovale*. Представник ове групе је примакин.
- Споротициде:** лекови који спречавају спорогонију и размножавање паразита у комарцима. Овој групи припадају хлорогуанид и пириметамин.

3. ЛЕКОВИ ПРОТИВ МАЛАРИЈЕ

У историји медицине, маларија је прва болест за чије је лечење коришћен изоловани природни производ - **кинин** (изолован 1820. године из коре *Cinchona* дрвета), и истовремено прва болест за чије је лечење коришћено неко синтетичко органско једињење - **метиленско плаво** [1891. године је Пол Ерлих (Paul Ehrlich), немачки научник, излечио два пацијента оболела од маларије] [6].

Према структури, лекови против маларије деле се на [7]:

- 4-супституисане деривате хинолина
- деривате 8-аминохинолина
- пириметамине
- артемизинин и његове деривате: артесунат, артематар и дихидроартемизинин.

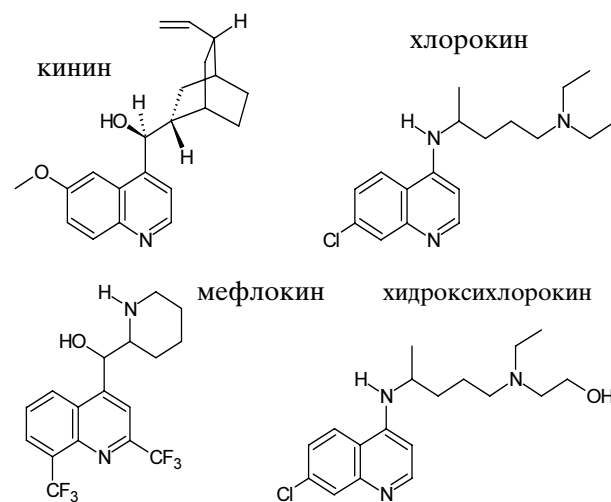
3.1. 4-супституисани деривати хинолина:

Овој групи лекова припадају: кинин, хлорокин, хидроксихлорокин и мефлокин (слика 3).

Кинин се у природи налази у кори *Cinchona* дрвета. Почетком 17. века, језуитски свештеници су кору овог дрвета донели у Европу, приликом свог повратка из Перуа. Перуански индијанци су жвакали кору дрвета за лечење грознице. Свештеници су претпостављали да би на сличан начин могли да ле-

че симптоме грознице и код пацијената оболелих од маларије. Године 1944. је први пут синтетисан кинин али до данашњих дана није остварена индустријска синтеза.

Године 1934. немачка фабрика за производњу боја Бајер (*Bayer*) синтетисала је једињење резохин. Испитивања су показала да је једињење токсично. Током Другог светског рата снабдевање тржишта кинином је прекинуто услед јапанске окупације острва Јаве. Амерички, британски и аустралијски научници су удруженим снагама покушавали да открију нове синтетичке антималярике. У том периоду извршена је синтеза и тестирање око 16000 једињења. Резохин је међу првима тестиран и по други пут једињење је показало знатну токсичност и одбачено је. Тек после другог светског рата, 1946. године, утврђено је да је токсичан ефекат био последица присутних нечистоћа. Приликом тестирања чистог узорка показано је да је резохин (касније преименован у хлорокин) најефикаснији антималярик. Педесетих година прошлог века хлорокин је додаван кухињској соли и на тај начин коришћен у профилактичке сврхе. Међутим, његова прекомерна употреба довела је до развоја хлорокин- резистентних сојева *P. falciparum*-а. За разлику од кинина, хлорокин се користи као смеша енантиомера. Оба енантиомера имају једнаку активност, али је D-изомер мање токсичан.



Слика 3. 4-Супституисани деривати хинолина.

Због значајне структурне сличности чланови ове групе лекова имају сличан механизам деловања. Утврђено је да ова једињења своју активност исказу-

ју на неколико начина и да је механизам деловања много сложенији него што се раније мислило. Први начин манифестује се у спречавању репликације ДНК или њене транскрипције у РНК формирањем комплекса са ДНК. Други механизам деловања манифестује се грађењем стабилних комплекса са FP-IX. Грађењем ових комплекса спречава се трансформација FP-IX у хемозоин. Формирани комплекс лизира ћелијску мембрану паразита и самог еритроцита. Тиме је омогућено ослобађање недовољно зрелог паразита у крвоток што узокује његову смрт. Трећи начин деловања заснива се на способности ових деривата да изврше пуферизацију унутрашњег простора лизозома и ендозома. Хинолини су слабе базе и на физиолошком рН се понашају као пуфери. Да би дошло до инфекције ћелија сисара неопходно је да се претходно снизи рН унутар органела од стране неког микроорганизма. Пуферизација тих средина онемогућава инфекцију. Истовремено, јонизацијом хинолинских деривата унутар хранљиве вакуоле спречава се њихово уклањање. Последица је значајно повећање њихове концентрације у паразиту.

3.2. Дериваџи 8-аминохинолина:

Памакин је први пут коришћен за лечење маларије 1926. Синтетисан је 1925. године у немачкој фабрици за производњу боја *Bayer*. Циљ је био да се синтетише нови антimalарик једноставније структуре у односу на метиленско плаво. После другог светског рата памакин је замењен примакином (слика 4).



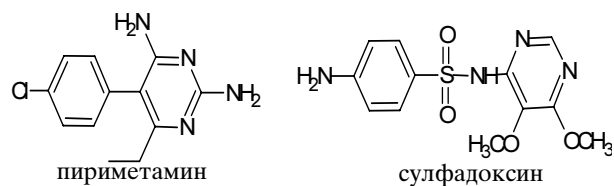
Слика 4. 8-Аминохинолини.

За разлику од 4-амино-деривата, примакин и други деривати 8-аминохинолина не инхибирају репликацију и транскрипцију ДНК. Аутооксидацијом 8-амино-групе настају реактивне кисеоничне врсте: водоник-пероксид, супероксид и хидрокси-радикали. 8-аминохинолини делују у егзоеритроцитној фази развоја паразита и практично немају никакав ефекат на еритроцитну фазу.

3.3. Пириметамини:

Пириметамин делује као инхибитор дихидрофолат редуктазе. Једињење има 1000 пута већи афинитет везивања за дихидрофолат редуктазу паразита у

односу на ензим домаћина. Користи се у комбинацији са сулфадоксином (сулфонамид), који блокира синтезу дихидрофолата (слика 5).



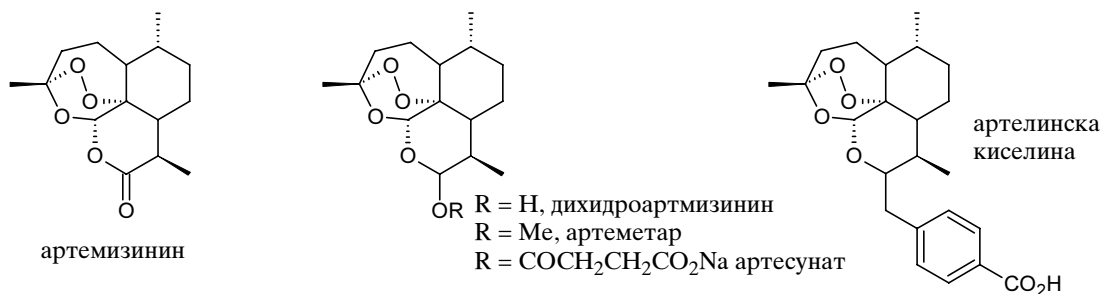
Слика 5. Пириметамин и сулфадоксин.

Различите комбинације као што су пириметамин и кинин, или пириметамин и сулфадоксин показале су ефикасност, али резистентност плазмодијума се развија изузетно брзо. Зато се препоручује њихово коришћење само против хлорокин-резистентних сојева. Међутим, сојеви који показују резистентност према пириметамину обично су резистентни и према хлорокину.

3.4. Артемизинин и његови дериваџи:

Билјка *Artemisia annua* L. вековима се користи у кинеској традиционалној медицини. Први записи у којима се помиње потичу из 168. г. п.н.е. У запису из 340 г. н.е., у делу под називом “Приручник рецепата за хитну помоћ” први пут се помиње екстракт ове билјке као лек против грознице. Аутор Бен Цао Ганг Му (Ben Cao Gang Mu), први пут, 1596. године помиње употребу екстракта ове билјке у лечењу маларије [8]. Године 1967. влада Народне Републике Кине установила је програм по коме су традиционални лекови тестирани на биолошку активност у којушају да се професионализује традиционална медицина. Билјка је тестирана и нађена је изразита антimalаријска активност. Године 1972. изолована је и пречишћена активна компонента и названа артемизинин (QXS, гингхаосу) (слика 6). Артемизинин представља сесквитерпенски лактон са ендпероксидном функцијом.

Истраживања су показала да је за антimalаријску активност артемизинина и његових деривата пресудно присуство пероксидне групе и карактеристичне триоксанске структуре. Због сасвим другачије структуре, механизам деловања артемизинина се значајно разликује од механизма дејства осталих антimalарика. Према важећој хипотези претпоставља се да механизам дејства започиње реакцијом пероксидне групе са јонима гвожђа и да том приликом настају различити радикали који су непосредно одговорни за смрт паразита. Претпоставља се да радикали могу да врше оксидативна оштећења ћелијске мембране паразита, и да могу да изврше алкиловање хема или неког виталног ензима паразита. Алкиловањем хем више не може да полимеризује у хемозоин. Повећање концентрације хема у паразиту може да изазове његову смрт. Алкиловањем виталног протеина он више не може да обавља своју функцију што има за последицу смрт паразита.



Слика 6. Артемизинин и његови деривати.

4. РЕЗИСТЕНЦИЈА ПАРАЗИТА ПРЕМА ЛЕКОВИМА

Резистенција паразита *P. falciparum* на стандардне лекове представља главни проблем у спречавању и лечењу маларије (табела 1). Резистенција паразита на хлорокин, најјефтинији и најзаступљенији лек, је раширена у скоро свим ендемским земљама. Проблем резистенције је додатно отежан постојањем укрштене резистенције између лекова који припадају истој хемијској групи. До сада је забележена резистенција на све лекове изузев артемизинина и његових деривата. Најугроженија подручја која су пого-

ђена резистенцијом су Индокина и област Амазона у Јужној Америци.

За настајање резистенције је најодговорније неадекватно и непотпуно лечење, као и мутације гена и различите физиолошке адаптације паразита на спољашње промене.

Фармацеутска индустрија улаже велике напоре у откривању нових и оптимизацији постојећих начина за борбу против маларије. Према предвиђањима Светске здравствене организације ускоро је могућ настанак резистенције и на артемизинин, јер се користи као прва линија одбране.

Табела 1. Почетак примене и појава резистенције стандардних антималярика.

антималярик	година почетка примене	година појаве резистенције	друга ограничења
кинин	19 век	1910.	подношљивост, безбедност
хлорокин	1945.	1957.	
прогуанил	1948.	1949.	
примакин	1950.		безбедност
сулфадоксин-пириметамин	1967.	1967.	
амодиакин	1975.		безбедност, могућа резистенција
мефлокин	1977.	1982.	цена, безбедност
артемизинин	середина 1970-тих		цена, подношљивост, безбедност
халофантрин	1988.	1992.	цена, безбедност
атовакон	1996.	1996.	цена
лапдап	2003.		могућа резистенција

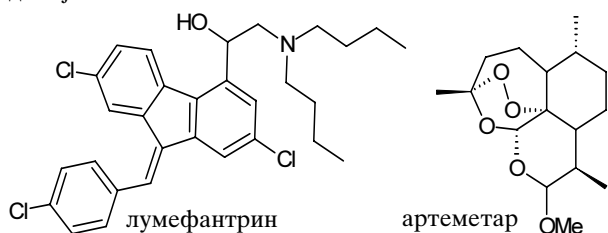
5. НОВЕ КОМБИНАЦИЈЕ ЛЕКОВА У БОРБИ ПРОТИВ МАЛАРИЈЕ

Од 2001. године Светска здравствена организација (WHO) предложила је развијање специфичних комбинација од најмање два лека као нов начин за борбу против маларије [9]. Предложено је да бар један од лекова буде артемизинин или неки његов дериват. Разлог за избор артемизинина као обавезног чиниоца смеше је тај да у досадашњим истраживањима није забележена клиничка резистентност паразита према овим дериватима. Неопходно је да лекови коришћени у комбинацији имају различите механизме деловања. Под тим се подразумева одво-

јен пут транспорта до места дејства и/или различита места деловања у паразиту. Стратегија у коришћењу нових комбинација заснива се на употреби лека који има високу активност при малим дозама, кратко време за које испољава дејство и добру толерантност. Други лек у комбинацији треба да има дужи период дејства и дужи полуживот у плазми зараженог пацијента.

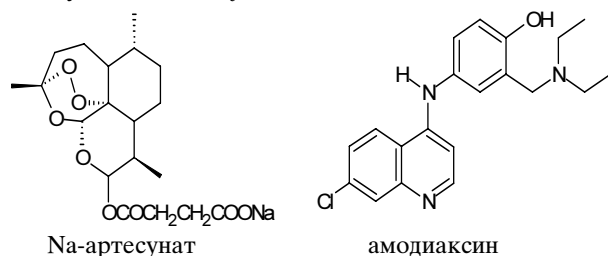
Један од таквих примера је комбинација артеметар-лумефантрин (*Coartem, Novartis*) (слика 7). Производња артеметра је дуготрајан процес (око 14 месеци), међутим, алтернативним приступом (микробиолошком производњом) би се могли синтетисати

његови прекурсори из којих би се хемијским путем добијао.



Слика 7. Coartem (артематар и лумефантрин)

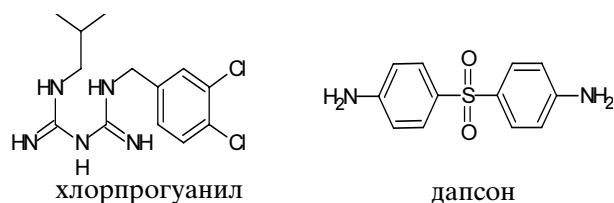
У априлу 2005. године почела је проиводња таблете која ће у себи садржавати тачну дозу артесунат-амодиаксин комбинације (*Arsucam*, **Sanofi-Aventis**) (слика 8). На тај начин би се смањила количина коришћеног лека - са тродневног третмана од 8 таблета на дан, на 3 таблете на дан. Овим приступом би се смањила могућност развоја резистенције као последица узимања само једне компоненте.



Слика 8. Arsucam (артесунат и амодиаксин)

Sanofi-Aventis испитује и друге антималярике: ферокин, триоксакине, тиазолијум, и холин-уртаке инхибиторе. Независно од ових пројеката DNDi (*Drugs for Neglected Diseases initiative*) је саопштио резултате из клиничких испитивања за фиксну дозу артесунат-мефлокин комбинације. Ова комбинација је подједнако активна као и терапија са одвојеним таблетама али има бољу толерантност и излечење које је веће од 92%.

У међувремену, развијене су бројне друге комбинације лекова које не садрже артеминизинин. **Gla-хоSmithKline** проучава комбинацију хлорпрогуанила (лапудрин) и дапсона која се још назива и *Lapdap* (слика 9).



Слика 9. Lapdap (хлорпрогуанил и дапсон)

MMV (*Medicines for Malaria Venture*) у сарадњи са University of Nebraska Medical Center, Omaha, Monash University, Australia, Swiss Tropical Institute, и Roche развили су нов препарат OZ277 (RBx11160) (слика 10). Ово једињење садржи ендопероксидну везу у свом молекулу (сличност са артеминизинином) која је од пресудне важности за његову активност. Једињење је активније у поређењу са артеминизинином. Због своје једноставније структуре у односу на артеминизинин може се индустријски производити. Фаза II клиничких испитивања је отпочела децембра 2004., а клинички тестови за комбинацију овог лека са пиперакином се очекују ускоро.

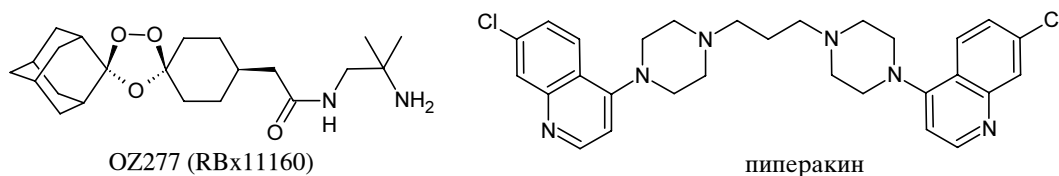
У току су завршне фазе испитивања два нова потенцијална антималярика (слика 11). DB289 се налази у каснијим фазама клиничких испитивања. Једињење има широку антипаразитску и антифунгалну активност (*Plasmodium*, *Trypanosoma* и *Leishmania*). Ово једињење показује 96% излечења код паразита *P. Falciparum* [10]. AQ13 представља нови аминокинолин. Иако има структуру сличну као хлорокин, AQ13 показује активност код хлорокин-резистентних сојева.

Abstract

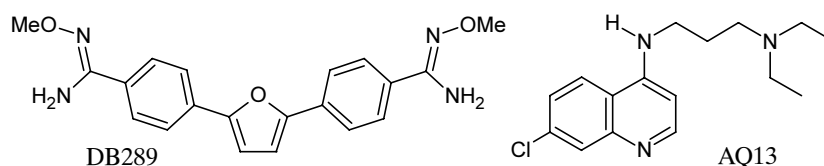
MALARIA ANCIENT DISEASE - NEW CHALLENGIES

Dejan Opsenica, ICTM, Department of chemistry, Belgrade, Igor Opsenica, ICTM, Department of chemistry, Belgrade

Malaria is one of the most deadly diseases in world affecting more than 500 million people with over 2 million deaths per year. Four species of *Plasmodium* cause human disease: *Plasmodium vivax* (*P. vivax*), *Plasmodium malariae* (*P. malariae*), *Plasmodium ovale* (*P. ovale*) and *Plasmodium falciparum* (*P. falciparum*). For the treatment of malaria there is a great number of drugs available, but limiting factors are: high prices, toxicity and increased resistant



Слика 10. OZ277 и пиперакин



Слика 11. DB289 и AQ13

ce of parasite. For these reasons there is great need for development of new drugs, increasing control of existing and finding new admission in treatment of malaria.

ЛИТЕРАТУРА

1. (a) Malaria Foundation International, <http://www.malaria.org/>. (b) M. Wahlgren, M. T. Bejarano. A blueprint of žbad air'. *Nature* **1999**, *400*, 506.
2. Д. Косановић-Ђетковић и сарадници, Акутне инфективне болести, VIII издање, *Дечје новине*, **1990**, стр. 406.
3. Malaria Foundation International, Roll Back Malaria, <http://www.malaria.org/RBM.html>, i linkovi dati na sajtu.
4. A Lange Medical Book: Basic and Clinical Pharmacology, 3rd Ed., Edited by Bertram G. Katzung, Appleton & Lange, Norwalk, Conecticut/Los Altos, California, 1987, Chapter 56: Antiprotozoal Drugs, Malaria, str. 618.
5. P. J. Rosenthal, S. R. Meshnik, *Mol. Biochem. Parasitol.*, **1996**, *83*, 131.
6. Antimalarial Chemotherapy: Mechanism of Action, Resistance and New Directions in Drug Discovery, Edited by Philip J. Rosenthal, Humana Press, Totowa, New Jersey, **2001**.
7. Foye's Principles of Medicinal Chemistry, 5th Ed., Edited by D. A. Williams, T. L. Lemke, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, **2002**.
8. D. L. Klayman, *Science*, **1985**, *228*, 1049.
9. A. M. Thayer, *C&EN*, **2005**, *83*, 69.
10. P.Yeramian, S. R. Meshnick, S. Krudsood, K. Chalermrut, U. Silachamroon, N. Tangpukdee, J. Allen, R. Brun, J. J. Kwiek, R. Tidwell, S. Looareesuwan, *J. Infect. Dis.* **2005**, *192*, 319.



ИВАН ГУТМАН, ЗОРИЦА ПЕТРОВИЋ, ВЛАДИМИР ПЕТРОВИЋ, СВЕТЛАНА МИЛОШЕВИЋ-ЗЛАТАНОВИЋ, Природно-математички факултет Крагујевац (e-mail: gutman@kg.ac.yu)

ХЕМИЈА ТВОРОВОГ “ПАРФЕМА”

Наш недавно објављени чланак [Хем. преглед 47 (2006) 54-57] описује мошус, зрују хемијских једињења изразито пријатног мириса. Сада одлазимо у другу крајност и говоримо о неким продукцима животињског царства који имају веома непријатан и неугодан мирис.

О ТВОРОВИМА

На самом почетку својих студија, хемичари треба да науче и усвоје следеће: *Ниједна хемикалија не смрди, али неке хемикалије имају неугодан мирис.* Чињеница је да неке хемикалије имају изразито неугодан, рекло би се одвратан, мирис. О некима од њих, који су природни производи и потичу од творова, говори овај чланак.

Постоји већи број животињских врста које се убрајају у творове. Од њих овде помињемо само две: обичног твора (*Mustela putorius*, *Слика 1*), који живи у Европи, па и у нашим крајевима, и скунка или твора смрдљивца (*Mephitis mephitis*, *Слика 2*), који настањује Северну Америку.

Твор се сврстава у породицу куна, у род ласица. Живи у Европи и Азији, а живи и у свим деловима наше земље. Настањује се на пољима, ливадама, на пољопривредном земљишту, на рубовима шума, у осушеним мочварама. Дању спава, а активан постаје када падне мрак. Храни се ситним глодарима (мишевима, пацовима, хрчцима), јежевима, жабама и малим птицама. Уме да лови и рибе. Краде кокошија јаја и зато га сматрају штеточином, иако због тога што тамани мишеве и пацове од њега има више користи него штете. Дугачак је око 40 cm на шта треба додати реп дужине 16-18 cm. Достиге тежину до 2 kg. Живи 12 до 14 година.

У пределу аналног отвора твор има две жлезде, које излучују материју веома непријатног мириса. Она служи за обележавање територије, али и као одбрамбено средство. Ако неко нападне или улови твора, он настоји да га попрска својим „мирисом”. Због тога творови имају мало природних непријатеља, ако не рачунамо човека.

Колико су писци овог чланка успели да сазнају, хемијски састав „мириса” обичног (нашег, односно европског) твора није истражен и о њему се скоро ништа не зна. Другачије стоје ствари са (америчким) твором смрдљивцем, па ћемо се у наставку овог чланка углавном њиме и занимати.

Твор смрдљивац (*Слика 2*) насељава територију читаве Северне Америке (од северних делова Канаде до Мексика). Називају га скунк (што на језику Алгонкин индијанаца значи „онај који прска”); правилан изговор енглеске речи skunk био би „сканк”, али је изговор „скунк” код нас до те мере одомаћен да би га сада тешко било мењати.

Скунк је величине домаће мачке: дугачак је 60-80 cm, од чега на реп отпада 20-30 cm. Тежак је неколико килограма (око 3). Крзно му је црно-беле боје. Доживи старост од 2-3 године, а у заробљеништву и преко 10 година. И он је ноћна животиња. Храни се инсектима, глодарима, гуштерима, жабама, а воли и јаја. Када је гладан, једе и биљну храну.

Оно што код скунка прво пада у очи је бела пруга која се налази на његовим леђима. То је, у ствари, сигнал упозорења за разне грабљивце (па и човека) да му се не прилази. Ако му се, ипак, неко непозван нађе на путу, онда скунк подигне свој реп (што је још једно – овога пута последње – упозорење), окре-